

EXOM (WHOLE EXOME SEQUENCING) [DNA] + FUSIONEN [RNA]

ANFORDERUNG

NGS-Panel '*(near) last line*' Patienten zur geplanten MTB-Vorstellung (Whole Exome Sequencing [DNA] + Fusionen [RNA])

WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND

Zahlreiche Sequenzierungsprojekte des humanen Genoms haben gezeigt, dass Tumore eine Vielzahl von Mutationen in verschiedenen Genen aufweisen¹. Die im Laufe eines Lebens auftretenden genetischen Veränderungen können wichtige Treiber der Kanzerogenese darstellen. Darüber hinaus unterliegt die DNA in Krebszellen stetigen weiteren Veränderungen, die sowohl eine Therapie-Resistenz bedingen, als auch mitunter Angriffspunkte für zielgerichtete Therapien bieten können^{2,3}.

Eine umfangreiche molekulargenetische Diagnostik wie die Exomsequenzierung (WES) und anschließende Bewertung von genetischen Alterationen durch Experten kann die Prognose von Krebspatienten verbessern. Aktuelle Studiendaten zeigen, dass bei etwa 25% der Patienten klinisch besonders relevante (sogenannte Tier-I) Mutationen nachweisbar sind. Bei über einem Drittel der Patienten lagen potenziell therapierbare Veränderungen vor und 10-20% der Patienten konnten in eine klinische Studie eingeschlossen werden.⁴ Eine individualisierte Krebstherapie ist häufig verbunden mit einem verbesserten progressionsfreien Überleben und nach Hochrechnungen auch Gesamtüberleben⁴. Bei Patienten mit bereits annähernd vollständig durchlaufenen Leitlinientherapien oder seltenen Tumoren wird dann ggf. eine evidenzbasierte Therapieempfehlung im Rahmen einer interdisziplinären Fallkonferenz (einem sog. Molekulares Tumorboard⁵) ausgesprochen.

Das Exom umfasst ca. 30 Millionen Basenpaare und enthält alle für Proteine kodierenden DNA-Abschnitte (ca. 22.000 Gene)⁶. Die Exomsequenzierung bietet im Gegensatz zur panelbasierten Diagnostik die Möglichkeit auch seltene und unerwartete Treibermutationen zu detektieren und so ggf. neue Biomarker zu identifizieren und unterstützt somit die Weiterentwicklung der Präzisionsmedizin.⁷

INDIKATION

Das auf der Next-Generation-Sequencing-Methode basierende xGen™ Exome Hyb Panel v2⁸ (Firma: IDT) umfasst alle proteinkodierenden DNA-Abschnitte des Genoms, das Exom. Es beinhaltet relevante Gene, welche als Biomarker für die Behandlung und/oder Prognose - verschiedener Tumorentitäten benutzt werden können. Darüber hinaus sind wichtige sog. komplexe Biomarker, wie den „Tumor Mutational Burden“ (TMB)- und die Mikrosatelliten-Instabilität (MSI), sowie Kopienzahl-Varianten (Amplifikationen) mit abgedeckt⁸.

Ergänzend wird eine Fusionsgenanalyse sowie die Untersuchung auf MET-Exon-14-Skipping Varianten auf RNA-Basis durchgeführt.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Die Exom-Sequenzierung kann an Tumormaterial durchgeführt werden, welches im Rahmen der pathologischen Diagnostik asserviert wurde, sog. Paraffineingebettetes Gewebe (FFPE-Material). Eine Blutprobe oder Normalgewebeprobe zum technischen Abgleich ist erforderlich.

NACHWEISMETHODE

Ausgehend von Schnittpräparaten dieses Materials auf Glasobjektträgern kann der Pathologe Bereiche mit einem hohen Anteil an Tumorzellen anzeichnen, die für die Isolation der DNA (und RNA) in ein Gefäß überführt werden. Die isolierte DNA (und RNA) wird dann fragmentiert und zielgerichtet mittels des s.g. Hybrid Capture-Verfahrens angereichert und im Anschluss mittels einer Next-Generation-Sequenzierungs-Methode

sequenziert. Das verwendete Exom umfasst insgesamt eine genetische Zielregion von 34 Mb (Referenzgenom: hg19/GRCh37). Die analysierten Gene bzw. Teilbereiche sind bei Bedarf separat zu erfragen.

LITERATUR

¹Weinstein JN et al., Nat Genet. 2013 Oct;45(10):1113-20.

²Jones S et al., Sci Transl Med. 2015 Apr 15;7(283):283ra53.

³Carr TH et al., Nat Rev Cancer. 2016 Apr 26;16(5):319-29.

⁴Kim JW et al., Sci Rep. 2025 Jan 16;15:2171.

⁵<https://www.ukaachen.de/kliniken-institute/institut-fuer-pathologie/krankenversorgung/molekulares-tumorboard-mtb/>

⁶Chan TA et al., Ann Oncol. 2019 Jan 1;30(1):44-56.

⁷Menzel M et al., npj Precis. Onc. 2023 Oct 20;7(1):106.

⁸<https://eu.idtdna.com/pages/products/next-generation-sequencing/workflow/xgen-ngs-hybridization-capture/pre-designed-hyb-cap-panels/exome-hyb-panel-v2>